

КЛІНІКО-ІМУНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ХРОНІЧНОГО НЕСПЕЦИФІЧНОГО НЕВИРАЗКОВОГО КОЛІТУ У ДІТЕЙ РАНЬОГО ВІКУ

Р.В. Марушко

ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України», м. Київ

Мета: вивчення активності цитокінів для визначення їх патогенетичної ролі та ефективності функціонування окремих факторів імунної системи у дітей раннього віку при хронічному неспецифічному невиразковому коліті (ХННК).

Пацієнти і методи. Обстежено 60 дітей віком від 1 до 3 років, хворих на ХННК, які знаходились на стаціонарному лікуванні. Контрольну групу склали 30 умовно здорових дітей відповідного віку. Імунологічний статус дітей оцінювали на підставі визначення концентрацій цитокінів у сироватці крові методом імуноферментного аналізу *Enzyte-Immuno-Sorbent-Assay*.

Результати. Встановлено, що при ХННК у дітей раннього віку концентрація та співвідношення різних груп цитокінів у сироватці крові зазнає значних змін — підвищується концентрація прозапальних цитокінів (IL-1α, IL-6, IL-8, TNF-α) та знижується рівень протизапальних цитокінів (IL-4 та IL-10), при цьому відбуваються зміни вмісту факторів росту — підвищення рівня фактора росту гепатоцитів та зниження рівня інтестинального треоїлового фактора.

Висновки. Виявлені зміни стану цитокінів можна розцінювати як порушення імунорегуляторних механізмів, які лежать в основі патогенезу формування хронічного запального процесу в кишечнику хворих дітей раннього віку.

Ключові слова: діти раннього віку, цитокіни, хронічний неспецифічний невиразковий коліт.

Вступ

Незважаючи на значну кількість наукових робіт, присвячених хронічним запальним захворюванням кишечника (ХЗЗК), залишаються відкритими багато питань етіології та патогенезу цих захворювань у дітей раннього віку. Все це спонукає до поглибленого вивчення патогенетичних механізмів цієї патології з метою удосконалення заходів профілактики ХЗЗК та пошуків нових підходів до їх лікування.

На сьогодні імунопатогенетична теорія походження ХЗЗК розглядається як одна з основних. Досягнення імунології свідчать, що за відсутності патології багато органів, у тому числі слизова оболонка кишечника, перебувають у стані «контрольованого» запалення, регульованого складним балансом прозапальних та протизапальних цитокінів [3].

Тривалі порушення локальних імунних реакцій, при яких ступінь активації прозапальних цитокінів перестає бути адекватним, а експресія протизапальних цитокінів недостатня, ведуть до формування деструктивних змін слизової кишечника, розвитку хронічного запального процесу.

У формуванні хронічної патології кишечника головну роль грають такі прозапальні цитокіни (ЦК), як фактор некрозу пухлини-альфа (TNF-α), інтерлейкіни IL-1, IL-6, IL-8, яким протидіють протизапальні цитокіни (IL-4, IL-10) [1].

Крім регуляції розвитку запалення на місцевому рівні, однією із властивостей прозапальних цитокінів є активація продукції факторів росту, яким останніми роками приділяється все більше уваги. У реалізації репарації та епітеліальної реституції слизової кишечника провідну роль відіграють такі імунні регулятори, як фактор росту гепатоцитів (HGF).

HGF вперше був описаний як мітоген для гепатоцитів [11], однак пізніше цей фактор росту був виявлений у багатьох органах і тканинах, включаючи ШКТ [7].

Наукові дослідження показали, що HGF є не тільки основним агентом сприяння проліферації гепатоцитів, але також модулює процеси проліферації та міграції епітеліоцитів, що веде до прискорення відновлення слизової кишечника у експерименті, [6]. Цікаві дані були здобуті

на тваринних моделях, які показали, що введення HGF відновлює васкуляризацію слизової, що позитивно впливає на її репарацію [14], а введення HGF разом із омега-3 ПНЖК значно посилює протизапальний ефект та покращує перебіг захворювання у тварин [8]. Всі ці дослідження обґрунтовують використання HGF як нового методу лікування ушкоджень слизової при запальних захворюваннях кишечника.

У літературі є обмежена кількість робіт з вивчення HGF при запальних захворюваннях кишечника у дітей. Так, виявлено, що у дітей старшого віку та дорослих, хворих на хворобу Крона та виразковий коліт, рівень HGF у сироватці крові значно підвищується [13]. У дітей раннього віку такі дослідження відсутні.

Участь у захисті та відновленні слизового бар'єру ШКТ бере також сімейство треоїлових факторів (TFF). Виділяють три фактори (TFF1, TFF2, TFF3), при цьому в кишечнику знаходиться інтестинальний треоїловий фактор (ITF). Поєднання TFF з муцинами веде до стабілізації слизового захисту ШКТ, при цьому TFF включається у процес олігомеризації молекули муцинових глікопротеїнів. Одними з найважливіших біологічних функцій треоїлових пептидів є забезпечення резистентності слизового епітеліального бар'єру та його регенерація [15].

Експериментальні дослідження останніх років показали, що дефіцит ITF при порушеннях інативного імунітету веде до порушень антиапоптозних механізмів захисту слизової кишечника [12]. При целиакії, яка представляє модель імуноопосередкованого запалення та ушкодження епітеліоцитів, значно знижується експресія інтестинального треоїлового фактора [4].

Слід зазначити, що більшість цитокінів та факторів росту не синтезуються клітинами за відсутності запальної реакції та імунної відповіді в організмі, тому їх експресія або незбалансована активація відображає патогенетичні зміни, які відбуваються в умовах розвитку та перебігу хронічного запального процесу.

Згідно із сучасними науковими даними, дизрегуляція імунної відповіді є однією з важливих патогенетичних ланок розвитку запального процесу, тому вивчення стану

Таблиця
Показники концентрації сироваткових цитокінів у дітей з хронічним неспецифічним невиразковим колітом (M±m)

Цитокін	Значення показника в групах дітей, пг/мл	
	Хворі діти (n=60)	Група контролю (n=30)
IL-1β	(21,69±1,42)*	11,6±0,42
IL-6	(1,52±0,13)*	0,2±0,02
IL-8	(21,42±0,93)*	6,20±0,38
TNF-α	(31,28 ±1,70)*	7,43±1,20
IL-4	(0,54±0,06)*	1,44 ± 0,23
IL-10	(1,13±0,16)*	1,89 ± 0,18

Примітка: * – різниця достовірна порівняно з контрольною групою, p<0,05

цитокінів при захворюваннях кишечника має важливе значення. Даних про стан цих імунотрансмітерів у дітей раннього віку, хворих на хронічний неспецифічний невиразковий коліт, на сьогодні недостатньо.

Метою дослідження було вивчення активності цитокінів для визначення їх патогенетичної ролі та ефективності функціонування окремих факторів імунної системи у дітей раннього віку при хронічному неспецифічному невиразковому коліті.

Матеріал і методи дослідження

Обстежено 60 дітей віком від 1 до 3 років, хворих на хронічний неспецифічний невиразковий коліт (ХННК), які знаходились на стаціонарному лікуванні. Контрольну групу склали 30 умовно здорових дітей відповідного віку.

При верифікації діагнозу використовували класифікацію хронічного неспецифічного невиразкового коліту згідно з наказом МОЗ України від 29.01.2013 р. № 59 «Уніфіковані клінічні протоколи медичної допомоги дітям із захворюваннями органів травлення».

Імунологічний статус дітей оцінювали на підставі визначення концентрацій цитокінів у сироватці крові методом імуноферментного аналізу Enzyme-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA).

Дані досліджень оброблені методами математичної статистики з використанням параметричних методів (критерій Ст'юдента, кореляційний аналіз). За критичне значення рівня значущості приймали 5%. Аналіз даних проводився за допомогою пакетів програм Excell XP.

Результати дослідження та їх обговорення

Результати вивчення сироваткових цитокінів у крові обстежених дітей наведені у таблиці 1.

За результатами імунологічного дослідження встановлено вірогідне підвищення вмісту прозапальних цитокінів (IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α) у сироватці крові хворих дітей порівняно із здоровими (p<0,05).

Наразі відомо, що IL-1α одним з перших включається у реакцію організму при дії патогенних факторів та розвитку запального процесу в кишечнику. Надмірний синтез IL-1α може сприяти інтенсивному наростанню пулу проліферуючих клітин та розвитку диспластичних змін кишкового епітелію, при цьому його рівень корелює з активністю запального процесу та ступенем uszkodження слизової. Отримані результати підвищення рівня IL-1α у сироватці крові обстежених дітей збігаються з дослідженнями інших авторів [5].

Крім активації Т- і В-лімфоцитів, IL-1α індукує синтез та діє синергічно з цитокінами IL-6 та ФНП-α. Як свід-

чать дані таблиці, у дітей з ХННК спостерігається значне підвищення IL-6 та ФНП-α порівняно з контрольною групою (p<0,05).

Подібні зміни цитокінового профілю у дітей з ХННК спричинені підвищенням експресії генів цитокінів у відповідь на антигенну стимуляцію патогенних або умовно-патогенних бактерій. Як відомо, бактеріальні антигени є одними з найсильніших індукторів синтезу цитокінів. Попередні дослідження показали, що при хронічних колітах у кишечнику спостерігаються значні дизбіотичні порушення з наявністю високого вмісту умовно-патогенних бактерій [2].

Відмічалось також вірогідне підвищення вмісту IL-8 у дітей з ХННК. Здатність IL-8 викликати міграцію лейкоцитів та сприяти їх адгезії визначають цей хімокін як активний регулюючий фактор імунної системи при запаленнях, у тому числі при загостреннях перебігу хронічного процесу.

Дослідження IL-4 та IL-10 у сироватці крові показали, що рівень цих цитокінів був зниженим і достовірно відрізнявся від показників групи контролю (p<0,05). IL-4 та IL-10 належать до протизапальних цитокінів, основною дією яких є пригнічення спонтанної та індукованої продукції прозапальних цитокінів IL-1α, IL-6, IL-8, TNF-α моноцитами і макрофагами. Крім того, вони блокують продукцію супероксидних радикалів та прозапальних ейкозаноїдів.

Таким чином, дослідження активності цитокінів показали, що у дітей з ХННК має місце дисбаланс цитокінового профілю - гіперпродукція прозапальних і дефіцит протизапальних цитокінів. В умовах прогресивного перебігу запального процесу надлишкова продукція та секреція агресивних радикалів та молекул може сприяти погіршенню патологічного процесу в слизовій кишечнику, подальшому uszkodженню інтестинальних епітеліоцитів та інших тканин організму. У цьому випадку цитокіни відіграють роль патогенетичних факторів, які сприяють розвитку хронічного процесу у слизовій кишечнику.

Значну роль у процесах регенерації при запальних захворюваннях кишечника грають фактори росту, які також належать до цитокінів та тісно взаємопов'язані з іншими компонентами імунного захисту організму. Серед факторів росту HGF є потужним мітогеном різних епітеліальних клітин і, як виявлено нещодавно в експериментальних дослідженнях, інтестинальних епітеліоцитів [6].

Проведені дослідження з вивчення HGF показали, що у дітей при ХННК рівень цього фактора росту дорівнював у сироватці крові (1242,5±24,6) пг/мл, що було значно вище показників у дітей групи контролю (421,0±21,6) пг/мл.

Перебіг запального процесу визначається складною взаємодією клітинних компонентів імунної системи, інтерлейкінів та факторів росту з компонентами позаклітинного матриксу. При цьому підвищення рівня прозапальних цитокінів відбувається з наступним зростанням синтезу факторів росту.

При проведенні кореляційного аналізу виявлено прямо пропорційну залежність між TNF-α та HGF IL-10 (r=+0,534, p=0,024). Це свідчить про те, що цитокіни, які є первинною ланкою імунної відповіді в організмі при патології, індукують синтез факторів, дія яких спрямована на регенерацію uszkodжених клітин. Тому необхідне визначення не тільки найбільш важливих цитокінів, які беруть участь у формуванні хронічного запального процесу в кишечнику, але й факторів росту та їх співвідношення.

Іншим фактором, який бере активну участь у захисті слизової кишечнику та її регенерації при різних негатив-

них вливах, є інтестинальний треоїловий фактор (ITF).

Поведені дослідження показали, що у дітей з ХННК експресія ITF була зниженою, концентрація цього фактора у сироватці крові хворих становила $0,76 \pm 0,05$ нг/мл проти $1,24 \pm 0,08$ нг/мл у здорових дітей ($p < 0,05$). При проведенні кореляційного статистичного аналізу виявлено зворотну пропорційну залежність між TNF- α і ITF ($r = -0,458$, $p = 0,016$). Низький рівень ITF можна пояснити інгібуючим впливом прозапальних цитокінів на епітеліальні клітини (Goblet cell), які синтезують треоїлові пептиди. Це підтверджується даним, що генна транскрипція ITF пригнічується в умовах активації TNF- α за участі нуклеарного фактора NF κ B [10].

Іншим поясненням може бути недосконалість процесів сульфатування треоїлових пептидів. У процесі сульфатування використовуються залишки цистеїна, за допомогою яких здійснюється завершення синтезу молекул треоїлових пептидів, а також молекул муцинів, які формують преепітеліальний слизовий бар'єр у кишечнику. Слід зазначити, що особливістю біологічної дії треоїлових пептидів є зміцнення (цементування) муцинового гелю, яке здійснюється за допомогою зв'язків треоїлових факторів та муцинів з використанням цистеїнових залишків [9].

У дітей раннього віку цистеїн є есенційною амінокислотою, синтез якої в умовах патології знижується. У зв'язку з недостатністю цистеїну як структурного матеріалу для формування сульфатних груп, синтез треоїлових пептидів обмежений, а в умовах перебігу запального процесу епітеліоцити не забезпечують відновлення треоїлових факторів, при цьому спостерігається зниження

їх рівня в організмі. Порушення взаємозв'язків треоїлових пептидів та муцинів, безперечно, знижує резистентність слизового бар'єру кишечника, що може сприяти погіршенню та поглибленню структурних ушкоджень слизової кишечника в умовах прогресивного перебігу запального процесу та триваючого впливу тригерних факторів.

Таким чином, визначення цитокинового статусу при захворюваннях кишечника має важливе прогностичне значення, оскільки рівень про- і протизапальних цитокінів, факторів росту та їх співвідношення відображають інтенсивність альтеративно-деструктивних і регенераторно-відновлюваних процесів, їх динаміку і прогресування захворювання. Використання показників цих порушень у клінічній педіатричній практиці дозволить поліпшити діагностику запальних процесів та може стати критерієм ефективності профілактичних та лікувальних заходів.

Висновки

При хронічному неспецифічному невиразковому коліті у дітей раннього віку концентрація та співвідношення різних груп цитокінів у сироватці крові зазнає значних змін — підвищується концентрація прозапальних цитокінів (IL-1 α , IL-6, IL-8, TNF- α) та знижується рівень проти-запальних цитокінів (IL-4 та IL-10), при цьому відбуваються зміни вмісту факторів росту — підвищення рівня фактора росту гепатоцитів та зниження рівня інтестинального треоїлового фактора.

Виявлені зміни активності цитокінів можна розцінювати як порушення імунорегуляторних механізмів, які лежать в основі патогенезу формування хронічного запального процесу у кишечнику дітей раннього віку.

ЛІТЕРАТУРА

1. Серебренникова С. Н. Роль цитокинов в воспалительном процессе / С. Н. Серебренникова, И. Ж. Семинский // Сибирский мед. журн. — 2008. — № 6. — С. 5—8.
2. Функціональне харчування та запальні захворювання кишечника у дітей раннього віку / О. Г. Шадрін, Р. В. Марушко, Т. Л. Марушко [и др.] // Совр. педиатрия. — 2010. — Т. 34, № 6. — С. 82—86.
3. Cardona S. M. The fine balance of chemokines during disease: trafficking, inflammation, and homeostasis / S. M. Cardona, J. A. Garcia, A. E. Cardona // Methods Mol. Biol. — 2013. — Vol. 1013. — P. 1—16.
4. Selective reduction of intestinal trefoil factor in untreated coeliac disease / C. Ciacci, D. Di Vizio, R. Seth [et al.] // Clin. Exp. Immunol. — 2002. — Vol. 130, № 3. — P. 526—531.
5. IL-1 α mediates chronic intestinal inflammation by promoting the accumulation of IL-17A secreting innate lymphoid cells and CD4(+) Th17 cells / M. Coccia, O. J. Harrison, C. Schiering [et al.] // J. Exp. Med. — 2012. — Vol. 209, № 9. — P. 1595—1609.
6. Mucosal repair and growth factors: recombinant human hepatocyte growth factor as an innovative therapy for inflammatory bowel disease / A. Ido, M. Numata, M. Kodama [et al.] // J. Gastroenterol. — 2005. — Vol. 40, № 10. — P. 925—931.
7. Kato Y. Enhancement of intestinal adaptation by hepatocyte growth factor / Y. Kato, D. Yu, M. Z. Schwartz // J. Pediatr. Surg. — 1998. — Vol. 33, № 2. — P. 235—239.
8. Katz M. S. Hepatocyte growth factor and omega-3-enriched feeds have a synergistic effect on mucosal mass in an animal model of inflammatory bowel disease / M. S. Katz, K. A. Thatch, M. Z. Schwartz // J. Pediatr. Surg. — 2012. — Vol. 47, № 1. — P. 194—198.
9. Kim Y. S. Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress / Y. S. Kim, S. B. Ho // Curr. Gastroenterol. Rep. — 2010. — Vol. 12, № 5. — P. 319—330.
10. Tumour necrosis factor alpha and nuclear factor kappaB inhibit transcription of human TFF3 encoding a gastrointestinal healing peptide / M. B. Loncar, E. D. Al-azeh, P. S. Sommer [et al.] // Gut. — 2003. — Vol. 52, № 9. — P. 1297—1303.
11. Michalopoulos G. K. Liver regeneration: molecular mechanisms of growth control / G. K. Michalopoulos // FASEB J. — 1990. — Vol. 4, № 2. — P. 176—187.
12. Colitis-associated variant of TLR2 deficiency / D. K. Podolsky, G. Gerken, A. Eyring [et al.] // Gastroenterology. — 2009. — Vol. 137. — P. 209—220.
13. Elevated serum hepatocyte growth factor in children and young adults with inflammatory bowel disease / M. Srivastava, D. Zurawski, P. Cheifetz [et al.] // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. — 2001. — Vol. 33, № 5. — P. 548—553.
14. Growth factor manipulation of intestinal angiogenesis: a possible new paradigm in the management of inflammatory bowel disease / K. A. Thatch, K. G. Mendelson, M. M. Haber [et al.] // J. Surg. Res. — 2009. — Vol. 156, № 2. — P. 245.
15. Wong W. Trefoil peptides / W. Wong, R. Poulosom, N. Wright // Gut. — 2006. — Vol. 44. — P. 890—895.

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ХРОНИЧЕСКОГО НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО НЕЯЗВЕННОГО КОЛИТА У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА

Р.В. Марушко

ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», г. Киев

Цель: изучение активности цитокинов для определения их патогенетической роли и эффективности функционирования отдельных факторов иммунной системы у детей раннего возраста при хроническом неспецифическом неязвенном колите (ХННК).

Пациенты и методы. Обследовано 60 детей в возрасте от 1 до 3 лет, больных ХННК, находившихся на стационарном лечении. Контрольную группу составили 30 условно здоровых детей соответствующего возраста. Иммунологический статус детей оценивали на основании определения концентраций цитокинов в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа Enzyme-Immuno-Sorbent-Assay.

Результаты. Установлено, что при ХННК у детей раннего возраста концентрация и соотношение разных групп цитокинов в сыворотке крови подвергается значительным изменениям — повышается концентрация провоспалительных цитокинов (IL-1 α , IL-6, IL-8, TNF- α) и снижается уровень противовоспалительных цитокинов (IL-4 та IL-10), при этом происходят изменения содержания факторов роста — повышение уровня фактора роста гепатоцитов и снижение уровня интестинального треоилового фактора.

Выводы. Установленные изменения состояния цитокинов можно расценивать как нарушение иммунорегуляторных механизмов, лежащих в основе патогенеза формирования хронического воспалительного процесса в кишечнике больных детей раннего возраста.

Ключевые слова: дети раннего возраста, цитокины, хронический неспецифический неязвенный колит.

CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL FEATURES OF CHRONIC NONSPECIFIC NON-ULCERATIVE COLITIS IN INFANTS

R.V. Marushko

State Institution «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology, NAMS of Ukraine», Kiev

Objective: To study the activity of cytokines for determination of their pathogenic role and effective action of the individual factors of the immune system in infants with chronic non-specific non-ulcerative colitis (CNNC).

Patients and methods. It is studied 60 children in the age from 1 to 3 years with CNNC, who were under hospitalization. The control group consisted of 30 apparently healthy children of appropriate age. Immunological status of children was evaluated on the base of determination of cytokine concentration in the blood serum by the method of Enzyme-Immuno-Sorbent-Assay.

Results. It is found that during the CNNC in infants and the concentration and ratio of the different groups of cytokines in the blood serum undergoes significant changes — increasing the concentration of pro-inflammatory cytokines (IL-1 α , IL-6, IL-8, TNF- α) and decreases the level of inflammatory cytokines (IL-4 is the IL-10), wherein the content growth factors is changing — by increased hepatocytes growth factor and reduced intestinal trefoil factor.

Conclusions. Found changes of cytokines state can be regarded as a violation of the immunoregulatory mechanisms that is the basis of pathogenesis of the formation of a chronic inflammatory process in the infant's intestine.

Key words: infants, cytokines, chronic non-specific non-ulcer colitis.

НОВОСТИ

Ученые впервые смогли вылечить шизофрению

В своем новейшем исследовании американские специалисты из медицинского колледжа штата Джорджия смогли на животной модели продемонстрировать, что чрезмерный уровень содержания в организме вещества под названием нейрегулин-1 отвечает за значительную часть случаев развития данного заболевания. Об этом сообщают иностранные СМИ.

Влияние на биологические процессы в организме с целью подавления выработки данного вещества способно полностью избавить человека от симптомов шизофрении.

На данный момент ученые провели проверку своей гипотезы только в эксперименте на мышах. Искусственным образом в ходе взросления животных медики поддерживали в их теле высокие уровни нейрегулина-1 и наблюдали, какое влияние это оказывает на состояние их психики. Симптомы шизофрении были налицо — при прохождении части стандартных тестов мыши демонстрировали аномальные психические реакции, которые серьезно затрудняли их жизни.

Однако после прохождения мышами отметки возраста, эквивалентного человеческому совершеннолетию,

мышам перестали давать нейрегулин-1, в результате чего уровень данного вещества в их организме стабилизировался в кратчайшие сроки. Это, в свою очередь, оказало поразительный эффект на психику — симптомы расстройства прошли полностью, и в стандартных тестах подопытные мыши начинали демонстрировать ничуть не худшие показатели интеллекта, чем мыши, у которых никогда не было шизофрении.

Ученые отмечают, что уровень выработки нейрегулина-1 контролируется геном ErbB4. Теоретически изменение этого гена позволит полностью исключить вероятность появления у человека шизофрении еще до рождения. Вместе с тем, ученые признают, что их выводы еще предстоит проверить и новую методику нельзя признать панацеей в плане борьбы с данным психологическим расстройством даже в том случае, если она успешно себя зарекомендует. Факторы развития шизофрении, по большому счету, остаются неизученными, и существует большое количество пациентов с данным расстройством, в организме которых не наблюдается повышенного уровня нейрегулина-1.

Источник: <http://medexpert.org.ua>